(Aus dem physiologischen Institut in Bonn.)

Ueber

die Glykogenbestimmung

nach S. Fränkel.

Dissertation

bei der

Meldung zum Doctorexamen

der medicinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn

vorgelegt

im Juli 1893

von

Jos. Weidenbaum

aus Vilich-Rheindorf.

Bonn,

Universitäts-Buchdruckerei von Carl Georgi.

1893.

Meinen lieben Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547419_0019

Im 52. Bande von Pflüger's Archiv S. 125 giebt S. Fränkel aus Wien eine neue Methode an, um Glykogen ohne Anwendung der Siedehitze aus Muskel oder Leber zu extrahiren.

Dieselbe besteht nach Fränkel's Beschreibung in folgendem:

„Zur Darstellung grösserer Mengen (d. i. Glykogen) empfiehlt es sich, das betreffende Organ rasch zerkleinert in eine 2—4% Lösung von Trichloressigsäure in destillirtem Wasser zu werfen, wobei man auf 100 gr nicht mehr als 250 ccm Flüssigkeit zu nehmen braucht. Die Leber wird kurze Zeit darin verrieben, hierauf wird abfiltrirt, eventuell noch mit derselben Lösung nachgewaschen, das Filtrat mit dem doppelten Volum Alkohol gefällt, nach 12 Stunden der Alkohol abgehebert, das Glykogen auf ein Filter gebracht und mit 60% Alkohol gewaschen, bis der abfliessende Alkohol nicht mehr sauer reagirt (die Trichloressigsäure ist in Alkohol sehr leicht löslich), hierauf mit 95% und absolutem Alkohol, schliesslich mit Aether gewaschen. Man erhält auf diese Weise ein schneeweisses, nahezu aschefreies Pulver (1 gr bei 110° getrocknetes Glykogen enthielt nur 0,0003 bis 0,0007 gr Asche). Bei den Proben mit Kaliummetall und Natronkalk auf Stickstoff erwies sich dasselbe vollständig von Verbindungen desselben frei.

Bei quantitativen Bestimmungen empfiehlt es sich, das Organ (Leber oder Muskel) rasch zerkleinert in einer 2—4procentigen Lösung von Trichloressigsäure gut zu verreiben, hierauf abzufiltriren und das Organ mit kleinen Mengen Wasser, denen man Trichloressigsäure zusetzt, solange in der Reibschale zu waschen, bis das Filtrat nicht mehr die Jodreaction giebt.

Verarbeitet man grössere Mengen eines Organs, was bei quantitativen Versuchen nur ausnahmsweise geschieht, so muss man nach der ersten Filtration abpressen, hierauf so verfahren, wie oben angegeben.

Im ersten Filtrat befindet sich beinahe das ganze Glykogen. Man wäscht nur dasjenige aus, welches in der vom Gewebe mechanisch noch zurückgehaltenen Flüssigkeit noch gelöst vorhanden.

Zerkocht man hierauf die Organe mit Kalilauge nach dem R. Külz'schen Verfahren, so gelingt es weder durch die Jodreaction, noch durch Kochen des geringen, beim Fällen mit Alkohol entstandenen Niederschlages mit Schwefelsäure und Prüfung des Reductionsvermögens Glykogen nachzuweisen, wenn man nur so lange nachgewaschen, bis die Jodreaction aufhört.

Die Trichloressigsäure hat bei diesem Verfahren verschiedene Functionen, sie hindert die Saccharificirung, macht das Glykogen frei, verhindert die Lösung der Eiweisskörper und vertritt zugleich den Eisessig im Brücke'schen Verfahren, indem die Salze derselben leicht in Alkohol löslich sind und sich das Glykogen bei Gegenwart derselben ohne wolkige Trübung gut und leicht nach Zusatz von Alkohol abscheidet.

Die mit Trichloressigsäure aus der Leber dargestellte Substanz, welche aschefrei, N-frei und Cl-frei gleich bei der ersten Fällung ist, braucht nicht weiter, selbst bei quantitativen Bestimmungen umgefällt zu werden.

Ersparniss an Reagentien und Arbeit einerseits, andrerseits die Reinheit des Präparates empfehlen diese Methode. Bei quantitativen Bestimmungen umgehen wir die Einwirkung von Kalilauge, welche nach den Untersuchungen von Vintschgau und Dietl, ferner von A. Panormow nicht ganz einwandsfrei zu sein scheint.

Bei blutreichen Organen insbesondere empfiehlt es sich, da diese sonst viel Trichloressigsäure erfordern, um diese zu ersparen, zu einer 2procentigen Trichloressigsäure 2—5% Essigsäure zuzusetzen.

Es bleibt uns nun noch übrig zu untersuchen, ob ein auf kaltem Wege dargestelltes Glykogen dieselben chemischen und physikalischen Eigenschaften hat, wie ein nach den ältesten Methoden bereitetes.

Das kalt dargestellte Präparat giebt die Jodreaction wie gewöhnliches Leberglykogen: färbt sich roth, Muskelglykogen violett etc."

Ferner sei noch aus der Fränkel'schen Arbeit folgende

Stelle angeführt: „Ich kann aus diesen Beobachtungen nur den Schluss ziehen, dass das auf kaltem Wege dargestellte Glykogen identisch mit dem durch Kochen dargestellten ist.“

Auf Anregung von Herrn Geheimrath Pflüger unternahm ich es nun, diese Methode auf ihre Richtigkeit zu prüfen, indem ich zunächst von je zwei denselben Fleischgemengen entnommenen Portionen, die eine nach Fränkel und die andere nach Brücke-Külz behandelte. Jedoch war es mir nicht möglich, auf diese einfache Weise zu einem bestimmten Resultate zu kommen, da die Darstellung des Glykogens nach Fränkel nicht so glatt ablief. Deshalb wurde eine Prüfung der von Kahlbaum in Berlin bezogenen Trichloressigsäure vorgenommen und der Schmelzpunkt richtig gefunden. Aus der Fabrik von Marquart bezogene Trichloressigsäure vom richtigen Schmelzpunkt ergab dasselbe, wie jenes Präparat von Kahlbaum.

Der Verlauf der Darstellung des „Glykogens“ wich in mancher Beziehung von den Angaben Fränkel's ab und das nach seiner Methode gewonnene Glykogen übertraf stets das entsprechende nach Brücke-Külz dargestellte an Quantität.

Als Beleg für das oben Gesagte will ich an dieser Stelle einen Versuch anführen, der von allen am meisten den Angaben Fränkel's entsprach. Im Anschluss an diesen Versuch werde ich dann noch mehrere schildern, durch welche ich klarzustellen gedenke, was von der Fränkel'schen Methode zu halten ist.

Bevor ich nun zu den Versuchen selbst übergehe, möchte ich angeben, wie ich in allen Versuchen den Fleischbrei bereitete, wovon ich mir die Theile zur Extraction des Glykogens nahm.

Möglichst bald nach dem Tode des Thieres wurde eine Menge Muskelsubstanz, welche von sonstigem Gewebe möglichst befreit war, in einer Hackmaschine mehrfach zerschnitten, mit einer kleinen Scheere noch schnell weiter zerkleinert und gleichzeitig innigst gemengt.

Hiervon nahm ich in allen Versuchen genau abgewogene Portionen und brachte die einen derselben in Trichloressigsäurelösung, die entsprechenden andern in Kalilauge zur Glykogenextraction nach Brücke-Külz. Die aus letztern nach der Eiweissfällung durch Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid mittelst Glaswolle erhaltenen klaren Filtrate wurden in je 2 gleiche Theile getheilt, von welchen jeder, für sich nach Külz weiter behandelt, die in

den einzelnen Versuchen als die Külz'schen Resultate bezeichneten Glykogenmengen ergab.

Versuch I.

(Kaninchenfleisch.)

Eine halbe Stunde nach Tödtung des Thieres wurden 50 gr des Fleischgemenges in 100 ccm kochende 2% Kalilauge gebracht und andere 50 gr desselben Gemenges in 125 ccm 3% Trichloressigsäurelösung.

Analyse nach Fränkel.

Nach Verreibung von 50 gr Fleischbrei in 125 ccm 3% Trichloressigsäure wurde die Flüssigkeit abgegossen und der Brei bis zur anscheinend vollständigen Trockenheit ausgepresst, um dann mit wenig Fränkel'schem Waschwasser (schwache Trichloressigsäurelösung) noch fünfmal ausgewaschen zu werden, obwohl schon beim dritten Male die ausgepresste Waschflüssigkeit die für Glykogen charakteristische Jodreaction nicht mehr gab. Die Waschflüssigkeit goss ich zu der Trichloressigsäure, in welcher das Fleisch verrieben worden war, und filtrirte dann durch Glaswolle wiederholt, bis das Filtrat klar war.

Dieses Filtrat wurde in zwei Hälften getheilt, deren jede somit dem Auszuge aus 25 gr Fleisch entsprach. In beiden wurde durch das doppelte Volumen Alkohol in 12 Stunden ein Niederschlag ausgefällt.

Nach Abheberung der über den Niederschlägen stehenden klaren Flüssigkeiten wurden jene auf je ein gewogenes Filter gebracht, mit Alkohol und Aether nach Fränkel's Vorschrift gereinigt, was auffallend lange dauerte, weil der Alkohol nur langsam durch das von der — einer weissen Schmiere ähnlichen — Substanz verstopfte Filter ging.

Bei 110° getrocknet, wog die auf dem einen Filter befindliche Substanz 0,055 gr, die auf dem anderen 0,0553 gr. Also war in den 50 gr Fleisch 0,1103 gr einer Substanz, welche nach Fränkel Glykogen mit wenig Asche war. Der Aschegehalt war allerdings ganz minimal, ebenso wie in den nach Külz erhaltenen Präparaten (s. u.)

Analyse nach Külz.

50 gr Fleisch in 2% Kalilauge gelöst.

Resultat:

Die 1. Hälfte (25 gr Fleisch) ergab 0,048 gr Glykogen
„ 2. „ (25 „ „ „ 0,048 „ „

Also war in den 50 gr Fleisch 0,096 gr Glykogen.

So folgt:

Nach Fränkel: **0,2206** % Glykogen
Nach Külz: **0,1902** „ „

Unterschied **0,0286** % Glykogen.

Da nun, wie in diesem Versuche, auch in allen andern der Procentgehalt des nach Fränkel erhaltenen Glykogens der höhere war, so entstand der Verdacht, dass dieses eine Verunreinigung enthalte. Folgende Versuche geben darüber Aufschluss.

Versuch II.

(Hundefleisch.)

50 Minuten nach dem Tode des Thieres wurde mit den Analysen begonnen.

Analyse nach Fränkel.

50 gr des Fleischbreies wurden nach Fränkel's Vorschrift in 125 ccm 3% Trichloressigsäure verrieben, ausgepresst und noch fünfmal ausgewaschen, obwohl schon die erste Waschflüssigkeit keine Jodreaction gab.

Die gesammten Auszüge wurden wiederholt durch Glaswolle filtrirt, ohne klar zu werden, dann in zwei Hälften getheilt, deren jede also 25 gr Fleisch entsprach.

Der ersten Hälfte wurde nach der Fränkel'schen Methode das doppelte Volumen Alkohol zugegossen und so in derselben eine weisse Schmiere gefällt. Diese brachte ich auf ein Papierfilter, reinigte sie nach Vorschrift Fränkel's, was wegen des langsamen Durchfliessens des Alkohols ca. 2 Stunden dauerte.

Wenn nun der Umstand, dass das Filtrat nicht klar war, keine weitere Bedeutung hat, so muss die Schmiere das Glykogen aus 25 gr Fleisch mit geringem Aschegehalt, aber frei von jeder anderen Beimengung sein.

Um dieses festzustellen, löste ich die Substanz in 50 ccm 2% Kalilauge, säuerte die Lösung mit Salzsäure an und bewirkte dann durch abwechselndes Zusetzen von Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid deutliche Fällung. Also war dieses Präparat nicht reines Glykogen.

Das Gewicht des nach der Külz'schen Methode aus dieser Substanz extrahirten Glykogens betrug 0,0815 gr = 0,326 %.

Die zweite Hälfte der durch Glaswolle nicht klar filtrirenden Trichloressigsäurelösung wurde, durch ein Papierfilter filtrirt, alsbald klar. Hieraus wurde nach der Fränkel'schen Methode das Glykogen dargestellt.

Anstatt dasselbe aber zu trocknen, löste ich es in 50 ccm warmem Wasser und bewirkte nach dem Erkalten durch abwechselndes Zusetzen von Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid Fällung.

Also war auch diese aus klarem Filtrate nach der Fränkel'schen Methode dargestellte Substanz nicht reines Glykogen.

Nachdem alles ausgefällt war, wurde zu der durch Glaswolle klar fil-

trirten Flüssigkeit das doppelte Volumen Alkohol gegossen und dadurch (in 2 Tagen) das Glykogen gefällt, welches nach Külz gewaschen und getrocknet 0,048 gr wog, also 0,192 % betrug.

Analyse nach Külz.

50 gr Fleisch in 100 ccm 2 % Kalilauge gelöst.

Resultat:

Die 1. Hälfte ergab 0,086 gr Glykogen
„ 2. „ „ 0,087 „ „

Also war in den 50 gr Fleisch 0,173 gr Glykogen,
d. i. **0,346** % Glykogen.

Der Aschegehalt war in allen Präparaten minimal.

Vergleichen wir die gefundenen Glykogenmengen auf 100 gr Fleisch berechnet, so ergibt sich:

1. Nach Külz . . . . . 0,346 % Glykogen
2. Nach Fränkel (nicht klares Filtrat durch Glaswolle) und Reinigung nach Külz . . . . . 0,326 „ „
3. Nach Fränkel (klares Filtrat durch Papier) und Reinigung nach Külz . . . . . 0,192 „ „

Dieser Versuch bezeugt, dass das nach Fränkel erhaltene Glykogen durch Eiweiss verunreinigt ist, sowie dass je nach der Natur des Filters verschiedene Mengen Glykogen verloren gehen, die von dem die Poren des Filters verstopfenden Eiweiss zurückgehalten werden.

Versuch III.

(Pferdefleisch.)

75 Minuten nach Tödtung des Thieres nahmen die Analysen des Fleischbreies ihren Anfang.

I. Analyse nach Fränkel.

Aus 100 gr des Fleischbreies wurde nach Fränkel's Vorschrift mit 250 ccm 3 % Trichloressigsäurelösung das Glykogen extrahirt. Mit dem Waschwasser betrug die Flüssigkeit 300 ccm.

Hiervon nahm ich 50 ccm, ohne vorher filtrirt zu haben, setzte das doppelte Volumen Alkohol zu und bewirkte dadurch das Ausscheiden eines Niederschlages, wodurch die Flüssigkeit klar wurde. Diesen Niederschlag löste ich in 30 ccm 2 % Kalilauge, fällte mit Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid, filtrirte bis die Flüssigkeit klar wurde, und als die beiden Reagentien keine Fällung mehr bewirkten, setzte ich das doppelte Volumen Alkohol zu, wo durch ein Niederschlag aus der Flüssigkeit ausgeschieden wurde. Das Präparat ging verloren.

Nach zehnmaligem vergeblichen Filtriren der übrig gebliebenen 250 ccm obiger Trichloressigsäurelösung durch Glaswolle theilte ich sie in drei Theile, von welchen zwei je 50 ccm, der dritte also 150 ccm der Flüssigkeit war.

Die ersten 50 ccm der noch trüben Flüssigkeit behandelte ich wie die nicht filtrirten 50 ccm (s. o.). Aus dem durch Alkohol gefällten und dann in 30 ccm 2 % Kalilauge gelösten Niederschlage wurde durch Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid ebenfalls Fällung bewirkt. Bei der weiteren Behandlung nach Külz ging auch dieses Präparat verloren. Dessenungeachtet wird hierdurch der Beweis geliefert, dass das in dem Trichloressigsäureauszuge enthaltene Glykogen verunreinigt war.

Die andere, obigen 50 ccm gleiche Flüssigkeit, welche also den Auszug aus 16,66 gr Fleisch enthielt, wurde weiter nach Fränkel behandelt. Die durch das doppelte Volumen Alkohol aus derselben gefällte weisse Schmiere verstopfte das Filter so, dass das Waschen der Substanz mit Alkohol 2 Tage dauerte. Die nach ihrer Reinigung getrocknete Substanz wog 0,261 gr (= 0,1566 %).

Der Rest der Trichloressigsäurelösung von 150 ccm, der also zehnmal ohne Erfolg durch Glaswolle filtrirt worden war, wurde, nachdem dieses noch längere Zeit mit demselben Resultate wiederholt worden, durch ein Papierfilter filtrirt und ergab alsbald ein klares Filtrat. Die weitere Fränkel'sche Behandlung lieferte aus demselben eine geringe weisse Schmiere, die auch das Filter verstopfte und getrocknet 0,0165 gr wog, entsprechend 0,033 %. Hieraus ergibt sich, dass durch Filtriren durch ein Papierfilter die Flüssigkeit klar wurde, während dieses durch Glaswolle nicht zu erreichen war, und dabei ein grosser Theil des Glykogens verloren wurde.

Analyse nach Külz.

50 gr Fleisch in 200 ccm 1 % Kalilauge auf 100 ccm (2 % Kalilauge) eingekocht und hierin gelöst.

Resultat:

Die 1. Hälfte ergab 0,029 gr Glykogen
„ 2. „ „ 0,029 „ „

Also war in den 50 gr Fleisch 0,058 gr Glykogen
oder 0,116 % Glykogen.

Sehen wir wieviel Procent Glykogen (?) die verschiedenen Darstellungsarten ergeben haben, so finden wir also für:

1. Külz . . . . . 0,116 % Glykogen
2. Fränkel bei nicht klarem Filtrate durch Glaswolle . . . . . 0,1566 % „ (?)
3. Fränkel bei klarem Filtrate durch Papierfilter . . . . . 0,033 „ „ (?).

Dieser Versuch zeigt abermals, dass das nach Fränkel dargestellte Glykogen verunreinigt ist und durch diese Verunreinigung das höhere Gewicht des Fränkel'schen Präparates bedingt ist. Ferner ersehen wir aus diesem Versuche, dass die Art des Filters einen grossen Einfluss auf die Quantität des Fränkel'schen Glykogens ausübt.

Versuch IV.

(Kaninchenfleisch.)

$1^1/_4$ Stunde nach Tödtung des Thieres konnte mit der Behandlung von vier Portionen des Fleischbreies begonnen werden. Zwei derselben behandelte ich nach Külz und zwei verrieb ich in Trichloressigsäure nach der Fränkel'schen Methode.

I. Analyse nach Fränkel.

Aus 50 gr Fleisch wurde nach Fränkel's Vorschrift ein Trichloressigsäureauszug dargestellt. Diese Flüssigkeit wurde zehnmal ohne irgend einen Erfolg durch Glaswolle filtrirt, dann in zwei Hälften getheilt, deren jede also den Auszug aus 25 gr Fleisch enthielt.

Aus der einen Hälfte fällte das doppelte Volumen Alkohol in 12 Stunden einen Niederschlag.

Nach Abheberung der über diesem stehenden, nunmehr klaren Flüssigkeit wurde derselbe zur weiteren Behandlung nach Fränkel auf ein Filter gebracht, dessen Poren er so verstopfte, dass der aufgegossene Alkohol nur durchtropfte. Die bei 110° getrocknete Substanz wog 0,0905 gr, betrug also 0,362 %.

Auf die zweite Hälfte der Trichloressigsäurelösung obiger 50 gr Fleisch wirkte das doppelte Volumen Alkohol in derselben Weise ein, wie auf die erste. Die aus dieser gefällte weisse Schmiere wurde auf einem Filter nach Fränkel's Vorschrift gereinigt und dann in 50 ccm 2% Kalilauge gelöst, um nach Külz weiter behandelt zu werden. Zusetzen von Salzsäure und Quecksilberjodid bewirkte Fällung. Als Resultat der Behandlung erhielt ich 0,0095 gr Glykogen, also 0,038 %. Somit musste jene Substanz, welche aus der ersten Hälfte dargestellt wurde und soviel mehr betrug als diese eine Verunreinigung enthalten, welche aus der letzteren beseitigt worden war.

II. Analyse nach Fränkel.

Dieselbe wurde genau in derselben Weise vorgenommen wie die obige (I.).

Aus 50 gr Fleisch wurde der Trichloressigsäureextrakt dargestellt, dieser in zwei Hälften getheilt (jede also entsprechend 25 gr Fleisch) und zu

jeder derselben das doppelte Volumen Alkohol zugegossen, wodurch aus der einen in 19 Stunden, aus der anderen in 12 Stunden Alles ausgefällt wurde.

Die eine behandelte ich weiter nach Fränkel und erhielt 0,0902 gr Fränkel'sches Glykogen, also 0,3608 %; die andere Hälfte aber behandelte ich in der Weise, dass ich die nach Fränkel dargestellte und gereinigte Substanz in 50 ccm 2% Kalilauge löste, mit Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid die Verunreinigungen fällte und durch die weitere Külz'sche Behandlung endlich 0,009 gr = 0,036 % Glykogen erhielt. Hier gilt dasselbe wie bei der I. Analyse.

I. Analyse nach Külz.

50 gr Fleisch wurden in 200 ccm 1% Kalilauge auf 100 ccm eingekocht und dann weiter bis zur völligen Auflösung gekocht.

Resultat:

Die 1. Hälfte ergab 0,0348 gr Glykogen
„ 2. „ „ 0,0351 „ „

In den 50 gr Fleisch waren also 0,0699 gr Glykogen
resp. 0,1398 %.

II. Analyse nach Külz.

In 200 ccm 1% Kalilauge waren 50 gr Fleisch. Die Lauge wurde auf 100 ccm eingedampft, so dass sie 2% wurde, und das Fleisch in dieser bis zur vollständigen Auflösung weiter gekocht.

Resultat:

Die 1. Hälfte ergab 0,0354 gr Glykogen
„ 2. „ „ 0,0354 „ „

In den 50 gr Fleisch waren also 0,0708 gr Glykogen
oder 0,1416 %.

Stellen wir zum Vergleiche die erhaltenen Werthe zusammen, so finden wir den Glykogengehalt, in Procenten ausgedrückt, für

Külz: I. Analyse 0,1398 % Glykogen
II. „ 0,1416 „ „

Mittelwerth: 0,1407 % Glykogen.

Fränkel: I. Analyse 0,3620 % Glykogen
II. „ 0,3608 „ „

Mittelwerth: 0,3614 % Glykogen.

Fränkel, nach der Külz'schen Methode nachbehandelt:

I. Analyse 0,038 % Glykogen
II. „ 0,036 „ „

Mittelwerth 0,037 % Glykogen.

Dieser Versuch beweist evident, dass das Fränkel'sche Glykogen verunreinigt ist und dass die dem Glykogen beigemischte Substanz nicht nur gleich dem Unterschiede zwischen dem Fränkel'schen und Külz'schen Glykogen ist, sondern viel mehr beträgt. Das nach der Fränkel'schen Methode gewonnene reine Glykogen ohne jede Beimengung ist aber viel weniger als das nach Külz dargestellte. Ich habe schon oben darauf hingewiesen, dass das Filtriren nicht ohne Einfluss auf die Quantität des Fränkel'schen Glykogens ist (vergl. Vers. II u. III). Jedoch die Unterschiede bei diesem Versuche können darauf nicht beruhen, da ich ja im Verhältniss gar nicht lange filtrirt und mich eines ganz lockern Filters bedient hatte, das Filtrat aber endlich gar nicht anders erschien wie die noch nicht filtrirte Flüssigkeit. So musste ich daran denken, ob vielleicht trotz des Fehlens der Jodreaction noch Glykogen in dem Fleischbrei zurückbleibe. Dieses zu erfahren, unternahm ich den folgenden Versuch.

Versuch V.

(Hundefleisch.)

[Anm. Da dieser Versuch als besonders wichtig erschien, wünschte ich mir ein glykogenreiches Fleisch zu verschaffen. Deshalb fütterte ich einen kleinen Hund einige Tage mit einer an Kohlehydraten reichen Nahrung (Fleisch und Reis).]

55 Minuten nach dem Tode des Thieres konnte der Fleischbrei in Arbeit genommen werden.

Zweimal 50 gr desselben wurden zur Behandlung nach Külz in je 200 ccm 1% Kalilauge gebracht, zweimal 50 gr zur Glykogenextraction nach Fränkel in je 125 ccm 3% Trichloressigsäure.

I. Analyse nach Külz.

Resultat: Aus 50 gr Fleisch erhielt ich 0,273 gr Glykogen, also 0,546%.

II. Analyse nach Külz.

Resultat: Aus 50 gr Fleisch wurden extrahirt 0,2805 gr Glykogen, also 0,561%.

I. Analyse nach Fränkel.

Nach tüchtiger Verreibung der 50 gr Fleisch in den 125 ccm Trichloressigsäure wurde die Flüssigkeit abgegossen und der Fleischbrei bis zur gänzlichen Trockenheit ausgepresst. In wenig schwacher Trichloressigsäurelösung wurde derselbe ausgewaschen und die von ihm begierig aufge-

nommene Flüssigkeit wieder ausgepresst. Dieses wurde noch einmal wiederholt, und obwohl die zweite Waschflüssigkeit Jodreaktion nicht mehr gab, wurde sie doch noch der übrigen Auszugsflüssigkeit zugegossen, deren Volumen nunmehr 190 ccm betrug. Durch $2^1/_2$ Volumen (96%) Alkohol wurde ein Niederschlag gefällt. Da aber die Flüssigkeit nicht ganz klar wurde, filtrirte ich dieselbe durch ein Papierfilter, auf welches ich dann auch den Niederschlag brachte. Durch schwache Kalilauge wusch ich nun das Filter ab, spülte mit Wasser nach und löste so den Niederschlag in dieser Flüssigkeit auf. Angesäuert gab dieselbe bei Zusatz von Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid Fällung. Nachdem durch diese Reagentien nichts mehr gefällt wurde, setzte ich dem durch Papierfilter erhaltenen klaren Filtrate, dessen Volumen mit dem Spülwasser des Filters 75 ccm betrug, $2^1/_2$ Volumen Alkohol zu und erhielt so zuletzt (nach Külz) 0,184 gr Glykogen (0,368%).

II. Analyse nach Fränkel.

50 gr Fleisch, wie in der letzten Analyse angegeben, behandelt, lieferten die durch Trichloressigsäurelösung (Gesammtvolumen 190 ccm) extrahirte, durch $2^1/_2$ Volumen Alkohol gefällte, durch wenig schwache Kalilauge und Wasser (wie bei der vorigen Analyse) gelöste, durch Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid gereinigte Substanz nach ihrer Ausfällung aus 84 ccm Flüssigkeit in einer Menge von 0,1773 gr, sodass sie also 0,3546% betrug.

Die Fleischrückstände, aus denen nach der Fränkel'schen Methode das Glykogen extrahirt war, wie in den beiden obigen Analysen nach Fränkel I und II angegeben ist, kochte ich in je 100 ccm 2% Kalilauge bis zur völligen Auflösung.

Külz'sche Analyse des Fleischrückstandes aus der I. Analyse nach Fränkel.

Fleischrückstand von 50 gr Fleisch durch 3 stündiges Kochen in 100 ccm 2% Kalilauge vollständig aufgelöst. Nach Eiweissfällung durch Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid filtrirte ich durch ein Papierfilter. Dem von Eiweiss reinen Filtrate, dessen Volumen ca. 140 ccm betrug, setzte ich $2^1/_2$ Volumen Alkohol zu. Der hierdurch gefällte Niederschlag wurde, auf ein gereinigtes Papierfilter gebracht, mit wenig 1% Kalilauge gelöst und das Filter dann mit Wasser abgespült. So erhielt ich eine Flüssigkeit, die sich als eiweissfrei erwies und deren Volumen 50 ccm betrug. $2^1/_2$ Volumen Alkohol fällten hieraus 0,0812 gr Glykogen. Somit enthielt der Fleischrückstand, aus dem nach Fränkel das Glykogen extrahirt war, noch 0,1624% Glykogen.

Külz'sche Analyse des Fleischrückstandes aus der II. Analyse nach Fränkel.

Der Fleischrückstand von 50 gr Fleischbrei wurde behandelt wie in der vorigen Analyse angegeben. Leider fiel nach der Eiweissfällung durch Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid das Becherglas um, in welchem das

klare Filtrat war. So ging ein grosser Theil verloren. Der Rest aber, weiter nach Külz behandelt, gab noch 0,04gr Glykogen. Also enthielt auch dieser Fleischrückstand, dem nach Fränkel alles Glykogen entzogen war, ohne Zweifel eine grosse Menge Glykogen.

Betrachten wir nun einmal die gefundenen Werthe etwas genauer und stellen wir sie zu diesem Zwecke zusammen:

Nach Külz:

I. Analyse: 0,546 % Glykogen
II. „ 0,561 % „

Mittelwerth 0,5535 % Glykogen.

Nach Fränkel extrahirt und nach Külz gereinigt:

I. Analyse: 0,3680 % Glykogen
II. „ 0,3546 % „

Mittelwerth 0,3613 % Glykogen.

Glykogengehalt des Fleischrückstandes aus der I. Fränkel'schen Analyse nach Külz:

0,1624 %.

Addiren wir nun diesen letzten Werth zu dem Mittelwerthe nach Fränkel:

0,1624 % Glykogen
0,3613 % „

so erhalten wir 0,5237 % Glykogen,

welcher Werth 0,0298 von dem Külz'schen Mittelwerthe abweicht, also um ca. 5,7 % geringer ist als dieser.

Dieser Versuch also hat gezeigt, dass die Fränkel'sche Methode nicht alles Glykogen dem Fleische entzieht, sondern einen bedeutenden Procentsatz in demselben zurücklässt, und dass das nach Fränkel extrahirte Glykogen sehr verunreinigt ist, sodass die nach dieser Methode dargestellte Substanz zum grossen Theile kein Glykogen ist.

Zur Erleichterung der Uebersicht stelle ich die bisher mitgetheilten Versuche in folgender Tabelle zusammen:

Tabelle der gefundenen Glykogenwerthe in Procenten.

Versuch	Analyse nach Külz	Analyse nach Fränkel				Analyse eines Fränkel'schen Trichloressigsäureauszuges nach Külz			
		Glaswollefiltrat		Papierfiltrat		Unklares Glaswollefiltrat		Klares Papierfiltrat	
		klar	unklar	klar	unklar				
I.	0,192%	0,2206%		—		—		—	
II.	0,346%	—		—		0,326%		0,192%	
III.	0,116%		0,1566%		0,033%	—		—	
IV.	0,1407%		0,3614%		—	0,037%		—	
						Aus nicht filtrirtem Auszuge		Aus dem Fränkel'schen Rückstande nach Külz:	
V.	0,5535%	—				0,3613%		0,1624%	

Die Fällbarkeit der verunreinigenden Substanz, sowie deren physikalische Eigenschaften machten es von vorneherein sehr wahrscheinlich, dass es sich um Eiweiss handele. Da aber Fränkel behauptet hatte, dass sein Präparat stickstofffrei sei, hielt ich es für nothwendig, mir durch die quantitative Analyse Gewissheit zu verschaffen:

Versuch V.

(Kaninchenfleisch.)

Von einem mit Hafer gefütterten Kaninchen stellte ich einen Fleischbrei dar, von dem zweimal 50 gr in je 125 ccm 3% Trichloressigsäurelösung gebracht wurden (1 Stunde nach dem Tode des Thieres).

I. Analyse.

50 gr Fleischbrei wurden ganz kurze Zeit in der Trichloressigsäurelösung verrieben und weiter genau nach Fränkel behandelt. So erhielt ich eine weisse Schmiere, welche, bei 110° getrocknet, 0,23 gr wog.

Aus dieser Substanz bestimmte ich nach der von P. Argutinsky verbesserten Kjeldahl'schen Methode den Stickstoff. (Dieses Arch. Bd. XLVI.) Die Substanz wurde nämlich in einem Glaskolben (von ca. 200 ccm Inhalt) mit 25 ccm conc. Schwefelsäure und $^1/_{10}$ ccm metallischen Quecksilbers bis zur vollständigen Entfärbung erhitzt. Den Inhalt dieses Kölbchens löste ich dann mit Wasser auf, spülte ihn in einem grossen Destillationskolben sorgfältig herüber, setzte conc. Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion zu und zur Bindung des Quecksilbers eine hinreichende Menge (12 ccm) gesättigte Schwefelnatriumlösung. (Anm. Das Schwefelnatrium wird von Kahlbaum in Berlin zu diesem Zwecke Nfrei dargestellt.) Um bei der Destillation das Stossen zu vermeiden, fügte ich noch eine kleine Menge Talk zu.

Dann wurde das Ammoniak in eine bestimmte Menge vorgelegte Schwefelsäure, von der 1 ccm genau 2 mgr N äquivalent war, überdestillirt. Der Ueberschuss an Säure wurde durch Titration mit einer äquivalenten Kalilaugelösung unter Benutzung der Cochenilleindication titrirt.

So erhielt ich aus den 0,23 gr Substanz (Fränkel'sches Glykogen) 9,4 mgr N, also 4,087% N, was einem Eiweissgehalt von 58,75 mgr resp. 25,544% gleichkommt.

II. Analyse.

50 gr Fleisch zur Behandlung nach Fränkel längere Zeit (ca. 20 Minuten länger als in I. Analyse) in der Trichloressigsäure verrieben. Die Flocken bei der Fällung waren viel grösser als bei der I. Analyse.

Resultat: 0,2809 Fränkel'sches Glykogen.

Aus dieser Substanz wurde wie in der ersten Analyse der Stickstoff bestimmt, und fand sich darin 27,3 mgr N oder 7,826%, entsprechend einer Eiweissmenge von 48,913%.

Also wird durch das Verreiben eines Fleischbreies in Trichloressigsäurelösung Eiweiss extrahirt und zwar um so mehr, je länger verrieben wird.

Ergebnisse.

1. Das auf das Sorgfältigste nach Fränkel's Vorschriften dargestellte sogenannte Glykogen giebt, in verdünnter Kalilauge gelöst, nach Neutralisation mit Salzsäure mehr oder weniger starke flockige Niederschläge durch Kaliumquecksilberjodid und Salzsäure. — Das Fränkel'sche Glykogen ist also stark verunreinigt.

2. Das Fränkel'sche Glykogen hat je nach der Dauer der Behandlung des Fleischbreies mit Trichloressigsäure einen mehr oder weniger hohen Stickstoffgehalt, der unter Umständen so bedeutend anwachsen kann, dass fast die Hälfte der Substanz wesentlich aus Eiweiss bestehen muss.

3. Der auf das Sorgfältigste nach Fränkel mit Trichloressigsäure ausgezogene Fleischbrei enthält noch sehr bedeutende Mengen von Glykogen, wenn man dasselbe nach Brücke-Külz verarbeitet. In meinen Versuchen betrug der Rest nicht ausgezogenen Glykogenes bis zu ungefähr $^1/_3$ der Gesammtmasse.

4. Die annähernde Uebereinstimmung der Analysen von Brücke-Külz und Fränkel ist nur dadurch bedingt, dass die Verunreinigung des Fränkel'schen Präparates mehr oder weniger ergänzt, was durch die Mangelhaftigkeit der Extraction an Glykogen nicht gewonnen wurde.

Zum Schlusse dieser Arbeit sei es mir gestattet, Herrn Geheimrath Pflüger für die vielfache Anregung und Unterstützung, welche er mir bei derselben zu Theil werden liess, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Auch den Herren Dr. Bleibtreu und Dr. Schöndorff sage ich an dieser Stelle für ihre freundliche Hülfeleistung bei meinen Versuchen den besten Dank.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Joseph Weidenbaum, israel. Confession, als Sohn des Metzgers Lambert Weidenbaum und der Rebecka Weidenbaum, geb. Salomon, am 29. Januar 1869 zu Vilich-Rheindorf im Kreise Bonn.

Nach Erlangung der elementaren Kenntnisse besuchte ich das Gymnasium zu Bonn, welches ich Ostern 1889 mit dem Zeugnis der Reife verliess. Darauf widmete ich mich an der Rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität zu Bonn dem Studium der Medicin und bestand am 2. März 1891 das Tentamen physicum, am 21. Juli 1893 das Examen rigorosum.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Docenten:

Binz, Bohland, Burger, Doutrelepont, Eigenbrodt, Finkler, Fuchs, Geppert, Hertz, A. Kekulé, Klingemann, Kochs, Koester, Krukenberg, Leo, Ludwig, von Mosengeil, Pelman, Pflüger, Saemisch, Schaaffhausen †, Schenck, Schiefferdecker, Fr. Schultze, Strasburger, Thomsen, Trendelenburg, Ungar, von la Valette St. George, Veit, Walb, Witzel.

Allen diesen hochverehrten Herren spreche ich an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank aus, besonders Herrn Professor Dr. Schultze für die Übertragung der Stelle eines Unterarztes an der medicinischen Klinik während des S.-S. 1893.